昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，July 2007，50(7)：750－754 ISSN 0454-6296

芫菁体内斑蝥素的含量及存在形式

李晓飞[1,2]，陈祥盛[1,*]，王雪梅[1]，侯晓晖[1,2]

(1.贵州大学昆虫研究所，贵阳 550025；2.遵义医学院寄生虫学教研室，贵州遵义 563033)

摘要：【目的】测定芫菁体内斑蝥素的含量及其存在形式。【方法】利用气相色谱法测定了8种芫菁和作为对照的黑翅红蝉体内总斑蝥素和游离斑蝥素的含量，总斑蝥素含量是通过酸水解法测得的，游离斑蝥素含量是通过直接浸提法测得的，以总斑蝥素与游离斑蝥素含量之差作为结合斑蝥素含量；并比较了结合斑蝥素与钙、镁含量之间的相关性。【结果】芫菁体内总斑蝥素的含量为游离斑蝥素含量的1～9倍，总斑蝥素的含量一般多于虫体干重的2.0%，而游离斑蝥素的含量均低于虫体干重的1.7%。黑翅红蝉体内不含任何形式的斑蝥素。斑芫菁属和豆芫菁属昆虫中的结合斑蝥素含量与钙元素呈正相关，斑芫菁属中结合斑蝥素含量与镁元素呈正相关，而豆芫菁属中结合斑蝥素含量与镁元素呈负相关。斑芫菁属昆虫体内钙元素的摩尔量要低于结合斑蝥素的摩尔量。【结论】芫菁体内总斑蝥素含量远高于游离斑蝥素的含量；结合斑蝥素可能是以斑蝥素酸钙和斑蝥素酸镁形式存在。

关键词：芫菁；斑蝥素；总斑蝥素；游离斑蝥素；结合斑蝥素；钙；镁；含量

中图分类号：Q969.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)07-0750-05

Contents and existing forms of cantharidin in Meloidae (Coleoptera)

LI Xiao-Fei[1,2], CHEN Xiang-Sheng[1,*], WANG Xue-Mei[1], HOU Xiao-Hui[1,2] (1. Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Department of Parasitology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563033, China)

Abstract:【Objective】To determine the contents and the existing form of cantharidin in Meloidae.【Methods】The total cantharidin obtained with acidolysis method and the free cantharidin obtained with direct extraction method were determined in eight species of Meloidae and the control species *Huechys sanguinea* (De Geer) (Homoptera: Cicadidae) by gas chromatography, and the content of the bound cantharidin in each species was calculated with the content difference between the total cantharidin and the free cantharidin. The relationship between the contents of the bound cantharidin and the contents of Ca and Mg elements in Meloidae were assessed.【Results】The results showed that the total cantharidin contents in the samples of Meloidae were 1 to 9 times the free cantharidin contents. The total cantharidin contents were generally higher than 2.0% of dry body weight and the free cantharidin contents were all less than 1.7% of dry body weight in Meloidae. No cantharidin in any form was found in *H. sanguinea*. Positive relationship was found between the bound cantharidin and Ca element in *Mylabris* and *Epicauta*, and between the bound cantharidin and Mg element in *Mylabris*, but negative relationship was found between the bound cantharidin and Mg element in *Epicauta*. And the mol of Ca element in *Mylabris* was lower than that of the bound cantharidin.【Conclusion】The contents of the total cantharidin were higher than the contents of the free cantharidin in Meloidae. The bound cantharidin may exist in the forms of magnesium cantharidate and calcium cantharidate.

Key words: Meloidae; cantharidin; total cantharidin; free cantharidin; bound cantharidin; Ca; Mg; content

斑蝥素(cantharidin)是芫菁科昆虫分泌的萜类防御物质。因其具有明显的抗癌活性以及后来发现的杀虫活性，为人们所关注，并对其进行了大量的研究(李晓飞等，2004)。芫菁体内斑蝥素含量有多种

基金项目：贵州省优秀科技教育人才省长资金项目(15001B-10)；贵州省高层次人才科研条件特助经费；贵阳市大学生创业科技项目(2006筑科技合同字第21-2号)

作者简介：李晓飞，男，1979年3月生，山东惠民人，博士研究生，从事资源昆虫学研究，E-mail：lixiaofei35@tom.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail：chenxs3218@163.com

收稿日期 Received：2006-12-20；接受日期 Accepted：2007-04-08

测定方法（谭娟杰等，1995；方宇凌等，2001）。实验证明用酸水解方法处理后可以获得芫菁体内的所有斑蝥素，本文中称之为‘总斑蝥素”；用直接三氯甲烷浸提法获得的斑蝥素，只是芫菁体内斑蝥素的一部分，本文中称之为‘游离斑蝥素”，其他不能直接用三氯甲烷提取出来的斑蝥素，本文中称之为‘结合斑蝥素”。我们测定了采自贵州的不同种芫菁体内的不同类型的斑蝥素含量。

王正益等（1990）报道在芫菁体内可能存在斑蝥素酸镁。经初步测定，在芫菁体内，钙、镁元素的含量远远高于其他的金属元素含量。因此我们尝试分析了结合斑蝥素与芫菁体内钙、镁元素之间的相关性，希望获得结合斑蝥素可能的存在形式，以便于今后深入的研究。

1　材料与方法

1.1　试虫

供试的 8 种野生芫菁为：凹角豆芫菁 *Epicauta impressicornis* Pie、锯角豆芫菁 *E. gorhami* Marseul、毛胫豆芫菁 *E. tibialis* Waterhouse、毛角豆芫菁 *E. hirticornis*（Haag-Rutenburg）和短翅豆芫菁 *E. aptera* Kaszab（豆芫菁属），眼斑芫菁 *Mylabris cichorii*（Linnaeus）、大斑芫菁 *M. phalerata* Pallas 和斑芫菁属一未定种 *Mylabris* sp.，均采自贵州境内（采集地见表 1）。每种样品量不少于 20 头，采回后置于冰箱中冻死。

另有大斑芫菁、眼斑芫菁与作为对照的黑翅红蝉 *Huechys sanguinea*（De Geer）（同翅目蝉科）购自贵阳三桥中药材市场。

将以上样品置于 60℃ 下烘干至恒重，然后用粉碎机打碎，放入干燥器内备用。

1.2　试剂

斑蝥素纯品（Sigma）。三氯甲烷、盐酸、硝酸、无水硫酸钠、无水碳酸钠、EDTA、钙指示剂、钙镁指示剂、三乙醇胺和盐酸羟胺等为化学纯试剂。正十六烷为色谱标准品，配制成浓度为 2.012 mg/mL 的正十六烷内标液，配制成浓度为 1.024 mg/mL 的斑蝥素标准品溶液。

1.3　气相色谱条件

气相色谱仪（美国 PERKIN-EMECK8500）色谱条件：柱温 175℃；进样温度 250℃；载气：N_2，流速 41.2 mL/min；检测器：FID，250℃。固定液：甲基硅橡胶（SE-30），涂布浓度 3.5%；担体：101 白色担体，80 ~ 100 目；色谱柱：内径 2 mm × 2 m。

1.4　斑蝥素的提取方法

采用 2 种方法处理芫菁样品，以得到 2 类斑蝥素，即总斑蝥素和游离斑蝥素。

1.4.1　总斑蝥素的提取方法：采用酸水解法，综合参考 Carrel 等（1985）、杨兆芬和丁在富（1995）以及方宇凌等（2001）方法，并加以改进。

精确称量 0.5 g 样品，用 2 mL 丙酮、30 mL 三氯甲烷混合溶液及 5 滴浓盐酸溶于带有冷凝管的 50 mL 烧瓶中，沸腾回流 12 h，将溶液浓缩至约 2 mL。把浓缩的提取液在无水硫酸钠及无水碳酸钠柱上用 10 mL 三氯甲烷淋洗，溶液浓缩至 1 mL，用三氯甲烷稀释至 5 mL，加入 1 mL 正十六烷内标液，备用。

1.4.2　游离斑蝥素的提取方法：采用直接浸提法，综合参考中华人们共和国药典（2000）（以下简称《药典》）以及谭娟杰等（1995）方法，略有改进。

精确称量 0.5 g 样品，置于 50 mL 有塞三角瓶中，加入 5 mL 三氯甲烷，摇动 30 min 后放置 24 h，加热到 40℃，趁热过滤，加入 1 mL 的正十六烷内标液，备用。

1.4.3　结合斑蝥素含量的计算：结合斑蝥素的含量 = 总斑蝥素的含量 − 游离斑蝥素的含量。

1.5　内标法

以正十六烷为内标剂，标定斑蝥素。正十六烷是非常理想的内标剂（国兴明等，2007）。

1.6　钙和镁元素的测定

采用 EDTA 滴定法测量（武汉大学，1982）。

1.7　数据统计处理

采用 SPSS 统计软件处理数据。

2　结果与分析

2.1　斑蝥素含量

贵州地区 9 种昆虫的斑蝥素含量测定结果见表 1。对表 1 中的数据进一步分析表明：（1）芫菁不同种类之间斑蝥素含量多数差异显著；同种芫菁的总斑蝥素含量与游离斑蝥素含量差异极显著。总斑蝥素含量是游离斑蝥素含量的 1 ~ 9 倍，其中豆芫菁属昆虫差异幅度最大，一般在 7 倍以上；而斑芫菁属昆虫的差异不大，在 1 倍左右。（2）结合斑蝥素的含量要远远高于游离斑蝥素的含量，由此可以看出斑蝥素在芫菁体内主要以结合斑蝥素的形式存在。（3）芫菁的总斑蝥素含量大多高于虫体干重的 2.0%，其中毛胫豆芫菁和短翅豆芫菁的含量最高，

一般在 3% 以上，最高达到 4.32%，它们体内的斑蝥素多数以结合斑蝥素的形式存在，而中药中广泛被应用的大斑芫菁体内的总斑蝥素含量却较低，都低于 2.14%。(4)各种芫菁体内的游离斑蝥素含量都低于 1.7%，其中斑芫菁属昆虫的游离斑蝥素含量均高于 0.4%，采自惠水的眼斑芫菁的含量最高达 1.7%，而豆芫菁属昆虫的游离斑蝥素一般在 0.35% 以下(《药典》中规定斑蝥素含量 > 0.35% 方可入药)。(5)黑翅红蝉体内不含任何形式的斑蝥素。

表 1 贵州不同地区 9 种昆虫体内的斑蝥素含量

Table 1 Contents of cantharidins in nine species of insects in Guizhou

种类 Species	来源 Source	总斑蝥素含量(%) Content of the total cantharidin	游离斑蝥素含量(%) Content of the free cantharidin
凹角豆芫菁 *Epicauta impressicornis*	罗甸 Luodian	3.03 ± 0.086	0.31 ± 0.064
	开阳 Kaiyang	3.11 ± 0.034	0.35 ± 0.035
	贵阳 Guiyang	2.63 ± 0.076	0.28 ± 0.063
锯角豆芫菁 *E. gorhami*	正安 Zhengan	2.61 ± 0.044	0.32 ± 0.086
	余庆 Yuqing	2.63 ± 0.051	0.28 ± 0.052
毛胫豆芫菁 *E. tibialis*	紫云 Ziyun	4.27 ± 0.065	0.37 ± 0.046
	绥阳 Suiyang	3.55 ± 0.031	0.16 ± 0.032
短翅豆芫菁 *E. aptera*	遵义 Zunyi	2.62 ± 0.065	0.25 ± 0.056
	贵阳 Guiyang	1.87 ± 0.074	0.12 ± 0.071
	花溪 Huaxi	3.48 ± 0.047	0.39 ± 0.067
	花溪(雌虫)Huaxi (♀)	3.17 ± 0.063	0.26 ± 0.064
	花溪(雄虫)Huaxi (♂)	3.72 ± 0.033	0.54 ± 0.072
	织金 Zhijin	4.32 ± 0.106	0.30 ± 0.030
	习水 Xishui	3.13 ± 0.012	0.29 ± 0.034
毛角豆芫菁 *E. hirticornis*	安顺 Anshun	2.28 ± 0.067	0.18 ± 0.024
眼斑芫菁 *Mylabris cichorii*	惠水 Huishui	3.16 ± 0.037	1.70 ± 0.038
	市场 Market	3.09 ± 0.086	1.56 ± 0.021
大斑芫菁 *M. phalerata*	市场 Market	2.14 ± 0.063	0.99 ± 0.010
	惠水 Huishui	1.50 ± 0.032	0.44 ± 0.021
	花溪 Huaxi	1.12 ± 0.024	0.49 ± 0.035
斑芫菁 *Mylabris* sp.	紫云 Ziyun	3.31 ± 0.065	1.53 ± 0.051
黑翅红蝉 *Huechys sanguinea*	贵阳市场 Guiyang market	无 None	无 None

注：采自惠水与花溪境内的大斑芫菁的斑纹为鲜红色，而购自贵阳市场的大斑芫菁为黄色斑纹。

Notes: The body stripes of *Mylabris phalerata* in Huishui county and Huaxi borough is cardinal red, while the body stripes of *Mylabris phalerata* bought from Guiyang market is yellow.

2.2 芫菁体内结合斑蝥素与钙、镁离子含量的相关性

选取 5 种样本数量大，结合斑蝥素含量差异显著的芫菁种类，比较它们体内的结合斑蝥素与钙、镁离子含量之间的相关性，结果见表 2。在这 5 种芫菁中钙元素和结合斑蝥素的含量呈正相关，相关系数 $R^2 = 0.9394$，但是在斑芫菁属昆虫(大斑芫菁和眼斑芫菁)体内钙元素的摩尔量要低于结合斑蝥素的摩尔量，在豆芫菁属昆虫(凹角豆芫菁、短翅豆芫菁和毛胫豆芫菁)中钙元素的摩尔量很高，远远高出结合斑蝥素的摩尔量。镁元素与结合斑蝥素的含量在大斑芫菁与眼斑芫菁中呈正相关，且其摩尔量很高，超过了结合斑蝥素的摩尔量，在凹角豆芫菁、短翅豆芫菁和毛胫豆芫菁中的含量呈负相关，且含量一般低于结合斑蝥素的摩尔量。

表 2 贵州 5 种芫菁体内的结合斑蝥素、钙元素和镁元素含量

Table 2 The contents of the bound cantharidin, Ca element and Mg element in the 5 species of Meloidae in Guizhou

种类 Species	结合斑蝥素 Bound cantharidin		钙元素 Ca element		镁元素 Mg element	
	%	mol/kg	mg/g	mol/kg	mg/g	mol/kg
大斑芫菁 *M. phalerata*	1.15	5.87×10^{-2}	1.59	3.98×10^{-2}	3.75	15.63×10^{-2}
眼斑芫菁 *M. cichorii*	1.53	7.81×10^{-2}	2.51	6.28×10^{-2}	4.97	20.71×10^{-2}
凹角豆芫菁 *E. impressicornis*	2.35	12.00×10^{-2}	8.34	20.85×10^{-2}	3.54	14.75×10^{-2}
短翅豆芫菁 *E. aptera*	3.09	15.77×10^{-2}	9.27	23.17×10^{-2}	3.25	13.54×10^{-2}
毛胫豆芫菁 *E. tibialis*	3.90	19.90×10^{-2}	11.70	29.25×10^{-2}	2.49	10.38×10^{-2}

3 结论与讨论

以往人们大多选用直接浸提法来处理样品，只能得到游离斑蝥素的含量，使得测定结果偏低，不能准确反应芫菁体内含斑蝥素的情况，这样做的后果有 2 个：(1)作为中药，不能准确的用药，只有根据医生的经验来谨慎服用，经常出现因服药过量而致死的现象，其实在人们长期的用药过程中，早已有中医发现斑蝥素含量“很低”的豆芫菁属昆虫的毒性要大于斑蝥素含量“高的多”的斑芫菁属昆虫；(2)很久以来人们过于依赖斑芫菁属昆虫，特别是大斑芫菁和眼斑芫菁(即中药中的斑蝥)，导致大斑芫菁和眼斑芫菁大量被采集，生态平衡受到严重破坏，自然界中野生种类数量大大减少，使中药材市场上经常出现断货的情况，不利于斑蝥素资源的长远开发，而总斑蝥素含量更为丰富的豆芫菁属昆虫却被人们所忽视。豆芫菁属昆虫种类多、分布广、数量庞大，是斑蝥素资源开发的重要种类，希望今后在提取斑蝥素时，应该用豆芫菁属昆虫来代替日渐稀缺的斑芫菁属昆虫。

从总斑蝥素远远高于游离斑蝥素的结果来看，《药典》中规定的用以指导服药的测定方法似有欠缺。《药典》中利用的直接浸提法，测定的是游离斑蝥素的含量，没有得到总斑蝥素的含量。众所周知，人类胃液中的 pH 值在 1～2 之间，属于强酸，芫菁在胃液内可以发生酸水解反应，释放出更多的斑蝥素，会严重危害病人的健康甚至生命！所以作者认为本研究对中药斑蝥的安全用药有一定的参考价值。

此前有人报道，在芫菁体内斑蝥素的含量随镁元素的增加而增加，并认为一部分斑蝥素以斑蝥素酸镁的形式存在(王正益等，1990)。本实验得到了不同的结果，证明在豆芫菁属昆虫体内这一结论不成立，并且其镁元素的含量较低，不能满足结合斑蝥素的需求，鉴于此，推测在豆芫菁属昆虫体内可能存在大量的斑蝥素酸钙，而在斑芫菁属昆虫中可能含有大量的斑蝥素酸镁。当然这还需经过大量的实验来证明。

有人认为当芫菁成虫排除斑蝥素后，其体内可以再合成新的斑蝥素。作者认为：斑蝥素作为保幼激素的代谢产物(McCormick and Carrel，1987)，其含量在芫菁成虫体内应该是固定的，只是有很大一部分以结合斑蝥素的形式储存起来，当遇到危险分泌出斑蝥素后，这部分储藏的斑蝥素又被释放出来。

通过比较鲜红色斑纹和黄色斑纹的大斑芫菁的外生殖器特征，证明斑纹颜色不同的大斑芫菁为同一个种，颜色差异以及斑蝥素含量的差异表明它们可能是不同的地理亚种。

谭娟杰等(1995)采用直接浸提法处理黑翅红蝉(中药名“红娘子”)，确定了在其体内不含有游离斑蝥素。我们用 2 种方法处理黑翅红蝉后，也都检测不到斑蝥素的存在，说明其体内没有任何形式的斑蝥素存在，同时说明红娘子可能被误用或者其体内含有其他的药用有效成分。

参 考 文 献 (References)

Carrel JE，Doom JP，McCormick JP，1985. Quantitative determination of cantharidin in biological materials using capillary gas chromatography with flame ionization detection. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*，342：411－415.

China Pharmacopoeia Committee，2000. China Pharmacopoeia. Vol. Ⅰ. Beijing：Beijing Chemical Industry Press. 272. [中华人民共和国卫生部药典委员会，2000. 中华人民共和国药典. 第 1 部. 北京：北京化学工业出版社. 272]

Fang YL，Tan JJ，Ma WZ，Liu JP，Liu X，2001. The natural resource and content of cantharidin in the adult of meloids in China. *Acta Entomol. Sin.*，44(2)：192－196. [方宇凌，谭娟杰，马文珍，刘举鹏，刘啰，2001. 芫菁科不同种类成虫体内斑蝥素的含量. 昆虫学报，44(2)：192－196]

Guo XM，Chen XS，Li XF，2007. A new internal standard method for the determination of cantharidin. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*，26(1)：48－51. [国兴明，陈祥盛，李晓飞，2007. 新内标法在斑蝥素测定中的应用研究. 山地农业生物学报，26(1)：48－ 51]

Li XF，Chen XS，Guo XM，2004. A review of research and application of cantharidin. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*，77(2)：169－175. [李晓飞，陈祥盛，国兴明，2004. 昆虫斑蝥素的研究与利用. 山地农业生物学报，77(2)：169－175]

McCormick JP，Carrel JE，1987. Cantharidin biosynthesis and function in meloid beetles. In：Prestwich GD，Biomquist GJ eds. Pheromone Biochemistry. Orlando：Academic Press. 307－350.

Tan JJ，Zhang YW，Wang SY，Deng ZJ，Zhu CX，1995. Investigation on the natural resources and utilization of the Chinese medicinal beetles－Meloidae. *Acta. Entomol. Sin.*，38(3)：324－331. [谭娟杰，章有为，王书永，邓正己，朱传先，1995. 中国药用甲虫芫菁科的资源考察与利用. 昆虫学报，38(3)：324－331]

Wang ZY，Zhang ZL，Zhang GQ，Li J，Liang SW，Zhang BS，Yang ZC，1990. Study on the microelement in different parts of *Mylabris*. *China J. Chin. Mater. Med.*，15(10)：24－25. [王正益，张振凌，张广强，李军，梁生旺，张本山，杨中朝，1990. 斑蝥不同部位微量元素的研究. 中国中药杂志，15(10)：24－25]

Wuhan University，1982. Analytical Chemistry. Beijing：Higher Education Press. 304 – 308.［武汉大学，1982. 分析化学. 北京：高等教育出版社. 304 – 308］

Yang ZF，Ding ZF，1995. Study on contents of cantharidin in *Epicauta ruficeps* Illiger. *Zool. Res.*，16(2)：161 – 165.［杨兆芬，丁在富，1995. 红头豆芫菁成虫芫菁素含量的研究. 动物学研究，16(2)：161 – 165］

（责任编辑：黄玲巧）